

# FEHÉRJEBONTÓ CSÍRÁK SZÁMÁNAK MEGHATÁROZÁSÁRA SZOLGÁLÓ TÁPKÖZEGEK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATA

CZAKÓ MIHÁLY—BUCSI IMRÉNÉ\*

A laboratóriumi gyakorlatban mind a rutin jellegű, mind a kísérleti jellegű feladatok megoldásánál gyakran szükségessé válik a fehérjebontó csírák számának meghatározása. A fehérjebontók kimutatására szolgáló tápközegeket az üzemi laborok maguk készítik. Az összes élő csírák számolására standard tápközeg készen is kapható, bár ez költségesebb. Kíváncsiak voltunk arra, hogy a különböző laborokban elkészíthető tápközegekkel meghatározott értékek között van-e szignifikáns eltérés, ezek szórásértékei indokolják-e a költségesebb standardok alkalmazását, illetve a fehérjebontók és az összes élő csírák számolására hol, melyik közeget célszerű felhasználni.

A hazai gyakorlatban a proteolitikus csírák kimutatására a zselatinos agar és a Polonyi-féle tejes agar terjedt el. Közismert azonban, hogy a különböző mikroorganizmusok egyes fehérjékre gyakorolt hatása eltérő. Amelyik a kazeint jól bontja az nem biztos, hogy a zselatint is hidrolizálja, vagy fordítva. E megfontolásból kiindulva a húsipari készítményeknél szívesebben használják a zselatinos agart. Meg kell azonban jegyezni, hogy a zselatin és az izomfehérje között is jelentős eltérés van. A zselatinos tápközeg használata is kényszermegoldás.

A kazein hidrolízise sem egyértelmű, amint erre FRAZIER és RUPP [1928], LIGHTBODY [1961] rámutatott. A tejes agaron a tiszta zónák 37—45%-ában savképző mikroorganizmusok okozzák a tápközeg feltisztulását. A tejes agar helyettesítésére FRAZIER és RUPP által kidolgozott tápközeg használata kissé nehézkes. Miután a cél az, hogy az üzemi sorozat elemzésre a munkát egyszerűsítsük a MARTLEY, JAYASHANDAR és LAWRENCE [1970] által ajánlott tápközeget célszerűnek tartottuk kipróbálni, mert a szerzők szerint ez az említett tápközegeknél érzékenyebb és egyidejűleg mind a proteolitikus, mind az összes csírák száma meghatározható vele. Ez a tápközeg áttetsző, 1% Na-kazeinatot, 0,015 M citrátot és 0,02 M Ca-t tartalmaz, és a proteolitikus csírák telepei körül opálos precipitációs zóna keletkezik 24—48 órai inkubálás után. Az opálos zónát kazeinából keletkező parakazeinek okozzák, amelynek nagysága és formája az egyes törzsekre jellemző.

Mivel a fehérjebontók kimutatására szolgáló tápközegen az összes élő csírák száma is meghatározható, így az összehasonlítást ebben a tekintetben is elvégeztük.

\* Mikrobiológiai Tanszék

## Anyagok és módszerek

*Polonyi-féle tejes agar:* 75 ml alapagar és 25 ml steril sovány tej. Alapagar: 10 g pepton (Witte), 1 Yestor kocka, 3 g élesztőkivonat, 20 g agar, 1000 ml víz. pH=7,4.

*Por-agar* (Humán Oltóanyag) előírás szerint felolvasztva.

*Zselatinos agar:* 10 g pepton (Witte), 3 g húskivonat (oxid), 3 g NaCl, 2 g  $K_2HPO_4$ , 5 g zselatin, 20 g agar, 1000 ml desztillált víz. pH=7,2. Inkubálás 30 °C-on 48 óra. Értékelés előtt 5%-os  $HgCl_2$ -dal leöntve.

*TEA Központi Labor* által készített tápközeg: 3 g húskivonat, 5 g pepton (Witte), 5 g konyhasó, 20 g agar, 1000 ml víz.

*Kazeines agar* (Frazier és Rupp) 3,5 g kazein, 20 ml Bouillon — (3 g húskivonat, 3 g pepton-Witte), 5 g NaCl, 1000 ml víz) — 10 ml 1,5%-os  $CaCl_2$  krist., 10 ml foszfát oldat (1,05%  $Na_2HPO_4 \cdot 2 H_2O$  és 0,35%  $KH_2PO_4$ ), 0,35 m K-citrát, 72 ml mésvíz, 15 g agar 500 ml-re feltöltve. pH=7.

A mésvizet 5 g tiszta égetett mészből 500 ml deszt. vízzel elkészítjük, és másnap az oldat tisztáját használjuk. A kazeint 15 perces deszt. vízben történő áztatás után a mésvíz hozzáadásával rázogatva oldjuk, majd a káliumcitrátot is hozzáadva a kazein teljesen feloldódik. Ezután a Bouillonnal  $CaCl_2$ -dal és foszfátoldattal elegyítve 500 ml-re egészítjük ki és 15 percig 1 atm. nyomáson sterilizáljuk.

Az agarból 15 g-ot 500 ml desztvízben nyomáson feloldunk és lemezöntés előtt az előmelegített kazeines oldattal összekeverjük (ugyanis a kazeines oldat újbóli felhevítést nem bír el!). Tenyésztés 30° 48 óra. A proteolitikus telepek körül áttetsző zóna keletkezik.

*Módosított nátriumkazeinátos agar* (MARTLEY és társai) 2,5 g élesztőkivonat (Oxid), 5 g triptofán (Oxid), 1 g glükóz, 15 g agar, 10 g Na-kazeinát, 4,38 g  $CaCl_2 \cdot 6 H_2O$ , 4,41 g nátriumcitrát.

Mivel nátriumkazeinát nem állt rendelkezésünkre, 10 g kazeint (Hammarsten) oldottunk 0,1 n NaOH-ban, ehhez kb. 20 ml kellett. Az oldódás után a tápközeget tizednormál sósavval 8-as pH-ig közömbösítettük. Ehhez mértük hozzá a többi anyagot a  $CaCl_2$  kivételével és 1000 ml-re feltöltve 1 atm. nyomáson 15 percig sterilizáltuk. Végül 20 ml steril 1 mólos  $CaCl_2$ -ot adtunk (4,98 g  $CaCl_2 \cdot 6 H_2O$ ) hozzá. A kész tápközegnél a pH=6,6. Vékony lemezt öntve belőle nem zavaros, hanem áttetsző. A  $CaCl_2$  mennyiségét kissé csökkentve az esetleges opalizáció elkerülhető. Mi a számolást szokványos módon történő lemezöntéssel végeztük. A szerzők szerint steril csészékbe öntve 2 mm vastagságban hűtőszekrényben 5 °C-on tárolható. Ők a leoltást 0,1 ml szuszpenzióknak a felületen való szélesztésével oldották meg.

*Tejminták.* A tejminták közül 12 db-ot vizsgáltunk az egyik sorozatban. Ezek egy részét nyers, másik részét frissen pasztörözött, harmadik részét ugyanebből 24 órai különböző hőfokon (szobahőmérséklet és hűtő) történő tárolási idő elteltével vizsgáltuk. A különböző módszerekkel kapott adatok párhuzamos vizsgálat eredményei. A másik 24 mintát részben nyerstejből, részben pasztörözött tejből vizsgáltuk, de az összehasonlításnál ekkor csak az összes élő csírák számának alakulását elemeztük.

*Hús és húskészítmények.* A minták közül 12 db-ot vizsgáltunk egy sorozatban fehérjebontók számára szolgáló tápközegeken, 15 mintát por-agon és zselatinos tápközegeken másik sorozatban. A minták fele részben kereskedelemről származó nyershúsok (sertés, marha) és főtt-füstölt töltelékes áruk (párizsi, olasz) voltak.

A mintákból 10 g homogenizátum + 90 ml steril csapvíz eldörzsölésével készítettünk törzssuszpenziót, majd a szokásos módon hígítási sort. A tejmintáknál is hasonlóan jártunk el.

## Eredmények és azok értékelése

A *tejjel* kapcsolatos eredmények az 1. sz. táblázatban találhatók. Az első sorozatban csak az összes élő csírák számát határoztuk meg. Az alkalmazott tápközegek átlag értékben nem mutatnak lényeges eltérést. A kazeinat agar szórása valamivel kisebb mint a másik két tápközegé.

1. TÁBLÁZAT

*A tej csíraszám és szórás értékei különböző tápközegeken*

| Sorozat | Tápközeg                | n  | Az összes csíra |        | Fehérjebontó |        |
|---------|-------------------------|----|-----------------|--------|--------------|--------|
|         |                         |    | log átlag       | szórás | log átlag    | szórás |
| I.      | Por-agar (Humán)        | 24 | 5,41            | 0,74   | —            | —      |
|         | Ipari standard          | 24 | 5,87            | 0,76   | —            | —      |
|         | Kazeinat agar (Martley) | 24 | 5,91            | 0,49   | —            | —      |
| II.     | Kazein-agar (Frasier)   | 12 | 4,55            | 0,99   | 4,07         | 0,94   |
|         | Tejes-agar (Polonyi)    | 12 | 5,25            | 1,19   | 4,56         | 0,80   |
|         | Zselatinos-agar         | 12 | 5,81            | 1,20   | 4,62         | 1,01   |
|         | Kazeinat-agar (Martley) | 12 | 6,13            | 0,90   | 4,85         | 1,06   |

2. TÁBLÁZAT

*Hús és húskészítmények csíraszám és szórásértékei különböző tápközegeken*

| Sorozat | Tápközeg                | n  | Összes csíra |        | Fehérjebontó |        |
|---------|-------------------------|----|--------------|--------|--------------|--------|
|         |                         |    | log átl.     | szórás | log. átl.    | szórás |
| I.      | Por-agar (Humán)        | 15 | 4,25         | 0,59   | —            | —      |
|         | Zselatinos agar         | 15 | 4,71         | 0,60   | —            | —      |
| II.     | Tejes-agar (Polonyi)    | 12 | 5,35         | 1,12   | 4,20         | 0,75   |
|         | Kazein-agar (Frazier)   | 12 | 4,25         | 0,65   | 3,62         | 0,80   |
|         | Kazeinat-agar (Martley) | 12 | 5,71         | 0,72   | 4,80         | 0,89   |
|         | Zselatinos agar         | 12 | 5,75         | 1,10   | 4,72         | 0,87   |

A második sorozatban az összes élő csírák száma az átlag logaritmus értékében a kazeinát agaron volt a legmagasabb, ami a tápközeg érzékenységet mutatja. A szórástérték is kedvező. Fehérjebontók meghatározása tekintetében is ez a tápközeg mutatkozik a legérzékenyebbnek, bár szórástértéke nagyobb, mint a tejes-agaré.

Véleményünk szerint a kazeinát-agar (Martley és társai) használata célszerű a tejipari gyakorlatban, mert mind az összes élő csírák számának meghatározására, mind a fehérjebontók meghatározására jól felhasználható. Kiértékelése könnyebb és egyértelmű. Megbízható, elkészítése nem költségesebb és munkaigényesebb mint más tápközegeké.

A hússal és húskészítményekkel az előzőkhez hasonlóan két vizsgálat sorozatot végeztünk. Az eredmények a 2. sz. táblázatban találhatók meg.

Az első sorozatban a zselatinos tápközeg és a por-agar hasonló eredményt adott. A második sorozatban a tejes és kazein-agaron (FRAZIER—RUPP) alacsonyabb értékeket kaptunk, ami érthető. Meglepő módon a kazeinát-agar (MARTLEY és társai) ebben az esetben is kielégítőnek mutatkozott, mert mind a csíraszám átlaga, mind a szórást-érték hasonló.

Ezek az eredmények arra engednek következtetni, hogy az összes csíraszám vonatkozásában a standard (Humán) tápközeg és az üzemekben használt tejes és zselatinos agar, valamint az általunk kipróbált kazeinát-agar között szignifikáns eltérés nincs. A kazeinátos agaron viszont a fehérjebontók számát is sikerrel meg lehet határozni, mind a tejnél, mind a hús és húskészítmények vizsgálatánál.

## Összefoglalás

Öt különböző tápközeg összehasonlító vizsgálatát végeztük el az összes élő csírák és a fehérjebontók számának meghatározására. A kipróbált tápközegek közül a MARTLEY és társai (1970), által javasolt kazeinát-agart találtuk a legmegfelelőbbnek tej, hús és húskészítmények vizsgálatára.

## IRODALOM

1. Frazier, W. C.—Rupp, P. J.: Bacteriology, 16, 65. (1968).
2. Lightbody, L. G.: Qd. J. agric. Sci. 18, 109. (1961).
3. Martley, F. G.—Jayashankar, S. R.—Lawrence, R. C.: J. appl. Bact. 33, 363—370. (1970).

## COMPARATIVE STUDY OF NUTRIENT MEDIA FOR THE DETERMINATION OF COUNTS FOR PROTEIN-DECOMPOSING MICROORGANISMS

M. Czákó and I. Bucsi

A comparative study was made of five different nutrient media for the determination of the counts of the total living microorganisms and those decomposing proteins. Of the media examined, the caseinate-agar proposed by MARTLEY et al. (1970) was found to be the most suitable for the examination of milk, meat and meat products.

## VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNG VON NÄHRBÖDEN ZUR BESTIMMUNG DER ZAHL PROTEOLYTISCHER KEIME

*M. Czako—J. Bucsí*

Vergleichende Untersuchungen an fünf verschiedenen Nährböden zur Ermittlung der Gesamtzahl an lebenden Keimen sowie der Zahl der proteolytischen Keime ergaben, dass sich von allen geprüften Nährmedien der 1970 von MARTLEY und Mitarbeitern empfohlene Kaseinat-Agar zur Untersuchung von Milch, Fleisch- und Fleischerzeugnissen am besten eignet.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА РАЗЛАГАЮЩИХ БЕЛОК ПРОРОСТКОВ

*М. Цако, И. Бучи*

Нами был проведен сравнительный анализ пяти различных питательных сред для определения числа всех живых проростков, разлагающих белок. Из числа испытанных сред наиболее благоприятной для исследования молока, мяса и мясных продуктов мы считаем предложенный Мартли и сотрудниками (1970) казеинат-ангар.